PREMIÈRES ÉTUDES EXPÉRIMENTALES

SUR LA NATURE DU

CANCER

PAR LE

Dr. Domingos Freire

Professeur de chimie organique et biologique à la Faculté de Médecine de Rio de Janeiro etc., etc.



RIO DE JANEIRO
Typ. Pinheiro & C., r. Sete de Setembro 157
1887



A M. le Docteur Rochard, Inspec
néral du Service d'Hygiène de la
Marine souvenir
de l'au

PREMIÈRES

ÉTUDES EXPÉRIMENTALES

SUR LA NATURE DU

CANCER

PAR LE

Dr. Domingos Freire

Professeur de chimie organique et biologique à la Faculté
de Médecine de Rio de Janeiro etc , etc.



RIO DE JANEIRO
Typ. Pinheiro & C., r. Sete de Setembro 157

1887

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A LA MÉMOIRE DE MON ÉPOUSE

Le regret du départ est pour celui qui reste.

AVANT-PROPOS

Ce n'est pas sans quelque inquiétude que je viens présenter au public ces nouvelles recherches. Dans le milieu où nous vivons, dans un pays où les découvertes scientifiques sont extrêmement rares, l'annonce d'un fait nouveau paraît un événement si extraordinaire que chacun se croit autorisé tout d'abord à le juger œuvre de pure fantaisie.

Tout le monde sait quelle lutte herculéenne j'ai dû soutenir pour que ma découverte de la nature parasitaire de la fièvre jaune vînt à être admise comme incontestable ; et je n'eusse jamais obtenu ce résultat sans l'appui qu'ont prêté à ma théorie des observateurs et des expérimentateurs étrangers, dont on ne peut contester la compétence et l'impartialité. Heureusement, il y a à peine quelques mois, M. le Dr. Rangé, médecin de première classe à la Guyane Française, vient de vérifier tous les faits capitaux que j'avais annoncés à l'Académie de Médecine de Paris, dès l'année 1884, et qui se trouvent minutieusement décrits dans le rapport intitulé *Doctrine microbienne de la fièvre jaune*, que j'ai présenté au gouvernement impérial en 1885.

Si je fais précéder de quelques réflexions préliminaires cette note sur le microbe du cancer, je ne m'adresse donc pas aux incrédules par système ou par influence mésologique. Mon but est de tranquilliser l'esprit de beaucoup de médecins, qui, ne trouvant plus dans leur arsénal aucune arme contre l'école parasitaire, se répandent en exclamations de terreur devant la marche envahissante de la doctrine microbienne, et l'accusent de vouloir s'emparer de toutes les entités morbides et réaliser la conception hardie de Raspail.

C'est pousser trop loin l'inquiétude ; que ces pathologistes et

ces cliniciens se rassurent en réfléchissant à l'immense étendue du champ de la nosologie ; ils peuvent en abandonner une partie à la doctrine microbienne, il leur restera encore un espace à perte de vue qui se prête à l'implantation d'individualités morbides de nature diverse et variée.

Après avoir accordé à l'école parasitaire le domaine des maladies infectantes et contagieuses, de manifestation interne ou externe, comme un grand nombre d'affections cutanées et exanthématiques, de pyréxies, comme la fièvre typhoïde, la fièvre jaune et d'autres, de maladies inflammatoires, comme la péri-pneumonie infectieuse, et la pustule maligne,de la syphilis, de la tuberculose, de l'actinomycose, il reste encore quantité d'affections à classer dans des familles bien éloignées du groupe bactérien.

Toutes les congestions et inflammations sans cause spécifique, toutes les affections dues à la viciation des quantités relatives des composés du sang, et dont l'agent n'est pas de nature vivante et indépendante, mais de cause purement organique et physiologique: toutes les dégénérescences de tissus produites par l'altération du travail normal des éléments anatomiques, en conséquence, soit de conditions d'âge, soit d'un vice héréditaire ou acquis ; et une multitude d'autres espèces morbides sont là pour attester combien peu de fondement mérite aux yeux de la science la crainte exagérée partagée par beaucoup de médecins, de voir le microbe devenir une sorte de formule universelle d'intégration pour toutes les évolutions pathogéniques.

Ces considérations m'enhardissent à présenter à l'appréciation du public mon étude sur le microbe du cancer. Elle n'est encore qu'à l'état d'ébauche ; mais je compte la développer graduellement avec l'appui de nouvelles expériences.

LE MICROBE DU CANCER

Entre toutes les maladies les plus anciennement connues, le cancer est celle que la croyance populaire a toujours attribuée à un agent vivant, étranger à l'individu, et qui aurait la propriété de ronger, de détruire les tissus, en les transformant en affreux ulcères d'une grande étendue et d'une grande profondeur.

Dans mon opinion, la science donnera raison à cette croyance, non sous la forme grossière que lui prête l'imagination du peuple, mais en révélant par l'inspection et l'examen microscopiques, et par l'expérimentation biologique, la présence d'un micro-organisme de morphologie bien déterminée, auquel sont dûs la genèse et le développement de l'affection cancéreuse.

Mon intention n'est pas d'entrer ici dans l'investigation des modalités distinctes qu'offre d'ordinaire cette affection, soit selon ses manifestations apparentes, qui ont fait distinguer les tumeurs squirreuses, encephaloïdes, mélaniques, sarcomateuses et autres, englobées par les cliniciens sous le nom de tumeurs malignes ; soit d'après ses caractères anatomiques, qui varient grandement de tissu à tissu, selon la trame histologique des organes qui sont le siège des altérations.

Il résulte des études anatomo-pathologiques faites dans ce sens qu'il n'y a pas de production anatomique spécifique pour ces variétés morbides; les cellules cancéreuses de Lebert, qui paraissaient être la caractéristique de l'affection, ont perdu aujourd'hui toute valeur étiologique pour les motifs que chacun sait. Il est plus que démontré qu'elles ne forment pas un caractère spécifique, et que leur importance est toute histologique et non causale.

Je ne prétends pas trancher ces questions difficiles de différenciation anatomique, qui selon toutes probabilités ne peuvent fournir aucun éclaircissement sur la nature étiologique du mal. Mon but est tout biologique. Je me propose de rechercher la cause qui perpétue l'état morbide, en allant l'étudier sur le cadavre comme sur l'individu vivant, en la poursuivant à l'aide du microscope dans le sang coulant de l'ulcère lui-même, ou dans celui qui parcourt tout le système de la circulation et, après avoir saisi cette cause, je la mettrai en relation avec d'autres organismes animaux ; pour provoquer la reproduction des mêmes phénomènes morbides produits dans l'homme, et arriver ainsi à la preuve réelle de sa spécificité.

J'ai actuellement en traitement à l'hôpital de *Nossa Senhora da Saude* une femme âgée, de race nègre, qui depuis longtemps (14 ans) souffre à la région mammaire gauche d'un vaste ulcère cancéreux qui s'étend de plus en plus et commence à envahir la même région du côté droit.

Cette malade m'a fourni les éléments de mes premières études sur le cancer. Son état général est assez satisfaisant ; il se ressent pourtant déjà de la cachexie propre à la période avancée de la maladie ; les engorgements ganglionaires se propagent dans le voisinage de l'ulcération. On peut dire que l'affection a atteint son *maximum* dans ce cas ; il offre donc la meilleure condition pour une détermination pathogénique digne de confiance. En plus de cette malade, j'ai examiné à l'hôpital de la *Misericordia*, dans les salles de MM. les Drs Bustamante Sá et Lima Castro, deux autres individus attaqués de la même affection, qui m'ont aussi fourni d'excellents matériaux.

Dans cette première communication je m'occuperai de divers points, vers lesquels j'ai porté mon attention dans l'ordre suivant :

———

Examen microscopique du sang et sa culture

Dans ces derniers temps la malade a eu des hémorrhagies par la surface d'ulcération, accident qui, comme on le sait, se manifeste souvent dans le cancer ulcéré. J'ai profité de cette tendance à l'hémorrhagie pour recueillir du sang, en touchant légèrement un bouton charnu exubérant de la solution de continuité, qui avait été peu auparavant lavée à l'eau phéniquée.

Après avoir fait sortir une petite quantité de sang, j'y ai plongé la pointe d'une pipette préalablement stérilisée. J'ai recueilli ainsi par capillarité quelques centigrammes de ce liquide que j'ai immédiatement mis à l'abri du contact de l'air en fermant à la lampe la pointe de la pipette.

Dans le laboratoire, quelques heures après, j'ai examiné avec tout le soin voulu une goutte de ce sang, dissoute au préalable dans un peu de glycérine stérilisée à une haute température.

Avec un grossissement de 450 diamètres, j'aperçus des globules sanguins (hématies et leucocytes) qui n'offraient rien de remarquable ; mais parmi ceux-ci apparaissaient des agglomérations que j'ai reconnues, en les examinant avec un grossissement supérieur à 700 diamètres, pour être des masses zoogléiques. Elles étaient en grand nombre, et ce fait a tout d'abord attiré mon attention. Une observation très minutieuse, à des diamètres compris entre 750 et 1200, ne permit de découvrir aucun autre élément étranger à la composition du sang.

Je résolus alors de semer quelques gouttes du sang recueilli, afin de m'assurer si ces masses zoogléïques persistaient, ou si elles engendraient d'autres configurations morphologiques.

J'introduisis dans un petit matras-Pasteur, rigoureusement stérilisé au moyen de la chaleur, de la gélatine également stérilisée ; puis je mis dans le matras, avec toutes les précautions nécessaires, quelques gouttes du sang en question.

Je dois faire remarquer que la gélatine avait été conservée pendant plusieurs jours dans une pipette-Pasteur, et qu'elle présentait la consistance de la gelée, ce qui attestait son inaltérabilité; et, de plus, qu'elle fut introduite dans le matras de culture avec le plus grand soin pour éviter la pénétration de germes étrangers.

Aucune altération ne s'étant manifestée dans le matras pendant près de cinq jours, je le mis quelques heures dans une étuve Wiesneg maintenue entre 37 et 40°. Deux jours après je remarquai que la gélatine se fluidifiait, et qu'elle tenait en suspension une poussière grumeleuse et blanchâtre.

Je pensai aussitôt à un travail vital des germes contenus dans le sang que j'avais semé et procédai à l'examen microscopique de la culture.

En employant un grossissement supérieur à 700 diamètres, je trouvai dans une seule goutte du liquide, recueillie avec toute la rigueur technique nécessaire, une multitude de bacillus, ayant une longueur moyenne de $0^{mm},011$ sur $0^{mm},002$ de largeur. Quelques-uns contenaient à l'intérieur des granulations, au nombre de deux et plus.

Ces bacillus sont arrondis à leurs bouts, et se meuvent avec rapidité, tantôt avec des ondulations progressives, tantôt se recourbant sur eux-mêmes en forme de demi-cercle; parfois ils prennent la position verticale, en s'appuyant sur une extrémité.

Ils sont parcourus latéralement par deux lignes sombres et ressemblent par leurs dimensions, en longueur et en largeur, aux bacillus de la fièvre typhoïde.

J'ai remarqué encore dans la même culture plusieurs zooglées et un grand nombre de spores épars, que je considère comme provenant des bacillus. Outre les bacillus adultes, j'en observai d'autres plus petits, en groupes, et paraissant dans la première phase du développement bacillaire des zooglées.

J'aperçus, de plus, des hématies détruites et des parties amorphes.

Selon la classification de Cohn, les micro-organismes que je viens de décrire sont des microbes appartenant au genre *bacterium*, correspondant aux bacillus des microbiologistes français; ce serait plutôt des micro-bactéries que des desmo-bactéries.

On me demandera sans doute comment il se fait, que je n'ai pas trouvé dans le sang ce bacillus, mais seulement des granulations zoogléïques. Je répondrai à cette objection qu'il y a, à mon avis, deux phases distinctes d'évolution, dont la première est représentée par les micrococcus réunis en zooglée, et la seconde, la plus avancée, par le bacillus.

Si ce dernier ne se trouve pas dans le sang c'est probablement parce qu'il n'y rencontre pas les conditions d'adaptation, appropriées à son existence, telles qu'une quantité suffisante d'air, une température plus convenable, etc., conditions qui se trouvent réunies dans le ballon de culture.

Mais dans le liquide sanieux qui baigne la superficie de l'ulcère, dans le suc cancéreux, on trouve des bacillus. parceque là existent les conditions topographiques nécessaires pour la transformation des *zooglées* en ces derniers. Le fait précédent, d'ailleurs, ne doit pas nous surprendre, puisque les observations de Robin et d'autres micrographes ont démontré la transition de l'état de *zooglée* à celui de bacillus complet.

On peut supposer que c'est au moment où cette transition s'opère que l'ulcération commence ; et, pour employer une comparaison qui rend bien ma pensée, que les *zooglées* sont seulements les larves, d'où plus tard sortent les bacillus qui perforent et détruisent les tissus pour aller chercher dans les parties superficielles exposées à l'air, les moyens de vie et de subsistance.

Ce qui se passerait relativement à l'affection cancéreuse, au-

rait aussi bien pour la tuberculose *zooglëique* et la tuberculose bacillaire, sur l'évolution desquelles il y a tant de divergences chez les auteurs qui se sont occupés de la question. Si l'on n'a pas trouvé dans certaines tuberculoses le bacillus de Kock, mais à sa place des micrococcus en *zooglées*, c'est que, probablement, ces derniers n'avaient pas eu l'occasion de parcourir leur cycle complet d'évolution, parcequ'ils n'habitaient pas des points de l'organisme appropriés à leur libre développement. Mais dans les crachats, dans le parenchyme pulmonaire, on trouvera facilement le bacillus, par la raison que le sang y est à la température convenable, et amplement baigné par l'air atmosphérique, tandis que dans d'autres régions, placées dans des circonstances moins favorables, on n'observera que des *micrococcus en zooglée*.

Tel est, je crois, le motif pour lequel, chez un malade du service de Lannelongue, on n'a trouvé, dans un tubercule cutané de l'avant-bras, qu'une formation *zooglëique* et pas de bacillus. Il y a plus encore ; divers animaux inoculés avec les mêmes produits ont été atteints également de tuberculose non bacilliaire ; mais les bacillus ont apparu à la sixième inoculation, sans doute parceque dans le sixième animal les zooglées ont trouvé une meilleure adaptation mésologique, après avoir eu le temps de se modifier pendant les cinq générations antérieures.

De même, dans l'affection cancéreuse, le germe morbigène peut seulement se développer sous la forme de zooglée à *l'intérieur* des vaisseaux sanguins, dont les dispositions anatomiques empêchent leur croissance ultérieure.

Mais dès que, par suite du progrès prolifique, les zooglées viennent à s'agglomérer à la superficie de certains organes où l'accès de l'air est facile ou existe déjà, l'ulcération s'établit, et la zooglée se transforme en bacillus.

Comme on le voit par cette théorie, la zooglée est aussi virulente que le bacillus, mais la qualité de travail de l'une et de

l'autre est différente : la première prépare la tuméfaction, et c'est au second qu'est due l'ulcération. Telle est l'évolution qui me semble plausible pour le moment, après une étude de plusieurs mois.

Je chercherai à la vérifier par des expériences nouvelles et répétées.

Analyse chimique de l'urine

Le principal régulateur de la recette et de la dépense de l'organisme, et, pour ainsi dire, l'enregistreur le plus important des altérations qui se produisent dans les échanges nutritifs des cellules—la sécrétion urinaire—devait nous révéler quelques faits relatifs à l'élimination de substances anormales, en conséquence de la réaction sur l'organisme du principe *phymatogénique* du cancer.

Pour obtenir une bonne interprétation pathogénique on ne peut aujourd'hui dispenser de rechercher, lorsqu'il s'agit d'un état morbide infectant, s'il se forme ou non des corps alcalins de la classe des ptomaïnes. C'est le premier point qui attira mon attention.

Je fis une provision de huit litres d'urine pendant dix jours consécutifs, en ayant soin de la conserver convenablement de manière à empêcher la fermentation ammoniacale, et soumis le liquide à la méthode de Stas pour la recherche des alcaloïdes.

Je vérifiai que l'éther sulfurique s'emparait d'un principe alcaloïdique ; mais celui-ci fut encore mieux dissous par l'alcool amylique, qui l'abandonna après évaporation spontanée sous une cloche, en présence de l'acide sulfurique et dans le vide, sous forme d'un liquide huileux d'odeur active et pénétrante, de couleur rougeâtre, contenant de l'azote au nombre de ses éléments,

et bleuissant fortement le papier rouge de tournesol. J'ai concentré ensuite lentement au bain-marie une certaine quantité du même alcool amylique qui avait dissous ce liquide alcalin, et je l'abandonnai à l'évaporation spontanée.

Deux jours après il me restait un résidu ayant toute l'apparence du liquide obtenu par le premier traitement, et donnant, chauffé avec de la potasse, des vapeurs ammoniacales abondantes.

L'urine de la femme qui souffrait du cancer contenait donc une ptomaïne liquide.

Expériences d'inoculation du principe alcalin à l'état de sulfate acide

Je pratiquai sur un cochon d'Inde, au moyen d'une seringue de Pravaz, une injection intra-hépatique, avec 1 gramme de solution aqueuse du sel ptomaïnique. Quelques minutes après l'injection je notai que l'animal se sentait indisposé ; il donnait des signes d'inquiétude et de malaise, et avait des nausées. La température n'offrait pas de variation.

Je laissai passer cinq jours, en faisant donner à l'animal son alimentation ordinaire. Après cet intervalle je le soumis à un examen minutieux. Le point de la piqûre ne présentait aucune solution de continuité ; il n'y avait pas signe d'inflammation ni d'abcès.

En palpant l'hypochondre droit, je notai un gonflement hépatique ; pendant mon examen, l'animal poussait des cris, et accusait de la douleur chaque fois que je comprimais l'abdomen. La percussion me fit reconnaître une grande augmentation du volume du foie. Cette augmentation était-elle causée ou non par l'implantation dans cet organe de l'affection cancéreuse, par suite de l'action irritante ou corrosive du liquide injecte ? C'est un problème que je me propose de résoudre plus tard.

Un autre cochon d'Inde me servit pour une deuxième expérience. J'injectai dans sa cavité péritonéale un demi-gramme du même liquide, et en même temps je pratiquai à la partie interne d'une des cuisses de l'animal une large incision intéressant la peau et le tissu cellulaire sous-cutané jusqu'aux gros vaisseaux, et déchirai intentionnellement les aponévroses superficielles et la membrane enveloppante des vaisseaux.

Mon but était de produire une plaie simple, afin d'obtenir, pour ainsi dire, un théâtre sur le quel pût appáraître l'ulcération cancéreuse, comme conséquence de l'absorption du liquide injecté. Il n'y eut aucun symptôme de péritonite.

Cinq jours après, voici ce que j'observai : l'abdomen sensible; l'incision que j'avais pratiquée, et que j'avais liée par une suture de fil de platine, était transformée en un vaste ulcère, tendant à approfondir, et saignant au moindre contact. Sa superficie portait des boutons charnus, exubérants, mamelonnés: c'était l'apparence des ulcères cancéreux. Le sixième jour, le même ulcère sanglant persistait, et je sentis, en palpant délicatement la zône abdominale la plus rapprochée de l'ulcère, un engorgement évident des ganglions lymphatiques superficiels. Les mêmes modifications continuèrent le septième jour.

Jusqu'à la date de cet article, les mêmes phénomènes se font observer. Ces faits paraissent indiquer que le travail d'ulcération a pour cause immédiate l'action irritante d'un principe élaboré par le microbe. C'est la seule conclusion à laquelle je me bornerai pour l'instant.

Sur un troisième cochon d'Inde je détachai un morceau de la peau, et je versai dans la solution de continuité quelques gouttes de liquide.

Cinq jours après je trouvai la plaie recouverte d'une croûte dure et noire, sous laquelle s'étendait une ulcération revêtue de boutons charnus exubérants, entourés de petits lambeaux blanchâtres, purulents. Je dois faire remarquer ici que j'arrosais tous

les jours l'ulcère avec quelques gouttes du liquide. Le même ulcère persista le septième, le huitième, le neuvième et le dixième jour, bien que j'eusse cessé les irrigations.

Cette expérience est la contre-épreuve de la précédente ; elle met en évidence l'action topique ulcérante, destructive, du principe alcalin.

Si je voulais résumer en une seule proposition l'ensemble des faits observés, je dirais que l'affection cancéreuse est causée par le développement d'un microbe, dont la première phase est un micrococcus en *zooglée*, et la phase terminale un bacillus, et que ce microbe élabore une ptomaïne qui, par son action corrosive, entretient le travail d'ulcération.

Je ne donne cette conclusion que comme provisoire ; j'en avertis les critiques que met mal à leur aise l'apparition d'une théorie nouvelle.

Peut-être aurai-je l'occasion de l'élargir ou de la modifier après des expériences subséquentes, Mais j'affirme une chose : c'est que les faits se sont passés tels que je viens de les décrire. Leur reproduction ou l'intervention d'autres faits, qui pourront me conduire à de nouvelles interprétations, sera l'objet de publications postérieures.

Expériences sur des oiseaux — Action physiologique de la ptomaïne cancéreuse sur ces animaux

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

Dans le corps d'un oiseau pesant 12 grammes, j'injectai hypodermiquement $0^{cc},4$ de la ptomaïne séparée par l'évaporation complète de l'éther : les symptômes observés au bout de cinq minutes furent les suivants :

Plumes hérissées (horripilations), pupilles dilatées, respira-

tion oppressée, convulsions fréquentes et violentes avec torsion du cou. Après un quart d'heure, la respiration devint abdominale; l'animal ne pouvait se tenir sur ses pattes; il tomba sur le côté gauche, qui semblait paralysé. Phalanges de la patte gauche recourbées en dessus et en arrière, Bec fortement fermé. Analgésie. Somnolence. Environ vingt minutes plus tard l'animal était moribond. Respiration de plus en plus difficile. Pupilles dilatées et immobiles.

Mort au bout de 40 minutes.

A l'autopsie, le cœur montrait sur sa surface externe des arborisations vasculaires très prononcées; il s'était arrêté en systole et était vide de sang. Poumons très congestionnés; gésier contenant des restes d'aliments; sa superficie externe, ainsi que celles des intestins, était parcourue par des arborisations vasculaires accentuées.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

Injection de 0^{cc},4 de la même ptomaïne que pour l'expérience précédente, sous la peau d'un oiseau pesant 10 grammes. Symptômes exactement les mêmes. Mort survenue au bout d'une heure.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

Injection sous la peau d'un oiseau du même volume 0^{cc},3 de la même ptomaïne. Cinq minutes après, agitation. Un quart d'heure plus tard sommeil irrésistible. En excitant l'animal, on le réveillait, mais il retombait aussitôt en somnolence.

Respiration haletante. Plumes herissées. Bec fermé. Commencement de paralysie dans le côté opposé à celui où s'est faite l'injection. Vingt minutes après quelques tremblements convulsifs généraux. Contraction des phalanges.

Au bout de 25 minutes la paralysie devint plus prononcée. Au bout d'une demi-heure je remarquai l'émoussement de la sensibilité et presque de l'analgésie.

Au bout de 35 minutes j'injectai sous l'aile encore $0^{cc},25$ de ptomaïne. Le sommeil devint immédiatement plus profond. L'animal penchait la tête du côté gauche, et s'éveillait tout à coup en sursaut. Au bout de 50 minutes il tomba sur le côté gauche, les paupières fermées. Torsion du cou au bout d'une heure.

Je couchai l'animal sur le dos ; il ne chercha pas à se relever. Tremblements convulsifs dans les pattes. Respiration abdominale accélérée. La mort survint au bout d'une heure et demie.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE

Je la fis dans les mêmes conditions que la précédente, et elle donna un résultat identique.

Ces quatre expériences montrent que la ptomaïne du cancer est une substance éminemment toxique.

Je ferai remarquer que je ne l'ai pas employée entièrement privée d'eau ; il est probable qu'à l'état anhydre elle est encore plus active, et causerait la mort de petits animaux à une dose moindre de moitié, soit $0^{cc},2$.

Les phénomènes produits par l'intoxication ressemblent fort à ceux que produit la nicotine. Substance aussi énergique, la ptomaïne doit jouer un rôle très important dans l'évolution pathogénique du cancer, soit localement, en contribuant à l'origine et à la perpétuation de l'ulcère cancéreux, soit d'une manière générale, en troublant la nutrition des tissus et en favorisant la dyscrasie sanguine. Elle doit se former peu à peu dans l'organisme, car, s'il en était autrement, celui-ci devrait présenter les

symptômes décrits plus haut. Elle opère un empoisonnement lent, dont le dernier terme serait la cachexie cancéreuse.

Virulence des cultures

Les cultures d'un sang de cancéreux se caractérisent par leur grande virulence, due sans aucun doute à l'élaboration de la ptomaïne, dont nous venons d'étudier l'action.

En effet, même en n'additionnant à la gélatine neutre, dans laquelle se fait la semence, aucune substance alcaline, cette gélatine, aussitôt qu'elle commence à se fluidifier, manifeste sur le papier rouge de tournesol une réaction fortement alcaline. (*)

L'empoisonnement lent, dont il est parlé plus haut, peut être clairement mis en évidence au moyen de l'inoculation des cultures à des animaux. Quelques expériences vont démontrer ce fait intéressant, et convaincront également de la possibilité de l'inoculabilité de l'affection cancéreuse.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

Je mis en culture sur de la gélatine, dans un matras-Pasteur, quelques gouttes de sang cancéreux. Après qu'elle fut bien fluidifiée, je recueillis $0^{cc},4$ de cette culture, et j'en fis une injection hypodermique à un cochon d'Inde.

Comme tous les auteurs prêtent une extrême importance aux traumatismes comme agents occasionnels du cancer, ou mieux de la localisation de l'affection cancéreuse, je fis intentionnellement à la partie externe d'une des cuisses de l'animal une solution de continuité, en arrachant un morceau de la peau, ayant la dimension d'une pièce de 50 centimes. Poids de l'animal, 350 grammes.

(*) Faisons remarquer que l'addition d'une petite parcelle de bicarbonate de sodium stérilisé active grandement la prolifération des bacilles.

Comme témoin, je pris un autre cochon d'Inde du poids de 444 grammes, et je lui fis aussi à une des cuisses une solution de continuité de la même dimension.

Le premier animal mourut le 8 Juillet, au bout d'un mois et cinq jours, tandis que l'animal témoin n'a éprouvé aucune altération et son ulcère s'était cicatrisée immédiatement par première intension.

Je fis l'autopsie, et voici ce que je trouvai :

Après avoir ouvert l'abdomen, je fus surpris par la présence d'une grande tumeur hémisphérique, située sur la fosse iliaque gauche, au dessous de la feuille pariétale du péritoine, qui enveloppait la tumeur. La surface de celle-ci offrait un réseau abondant d'arborisations veineuses. Sa grosseur était à peu près celle d'un œuf de poule. Sa consistance était molle, donnant au toucher une sensation de fausse fluctuation.

Par un petit orifice, qui ressemblait à un commencement d'ulcère, et que je découvris en un des points de la surface de la tumeur, je fis sortir, au moyen d'une légère pression une petite quantité d'une masse blanche, à moitié dure, ayant l'aspect et la consistance du tissu cérébral. Enfin, j'avais sous les yeux une lésion analogue à une tumeur encéphaloïde. Nous verrons plus tard l'analyse microscopique de cette production pathologique.

Examinant les autres organes, je trouvai le rein droit très augmenté de volume, de couleur pâle, déformé (polyédrique), comme bosselé, offrant la capsule sur-rénale très jaune, friable, et augmentée aussi de volume. La surface du même rein portait des stries blanchâtres, larges, qui parcouraient toute l'étendue des deux faces de l'organe.

Le rein gauche n'avait pas augmenté autant, mais il était durci en certains points. Le foie était très volumineux, de couleur jaune très foncé, mais de consistance normale. Cœur grossi et durci, comme *s'il avait été contracté par le tétanos*.

L'estomac contenait peu d'aliments ; sa muqueuse était pâle,

présentant cependant une zône vermeille près du pylore. L'anneau du pylore était très gonflé, dur et proéminent dans la muqueuse. Cette augmentation de volume et cette dureté devinrent perceptibles au toucher dès que j'eus découvert l'estomac et le duodénum. Vessie remplie d'urine.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

Le 12 Juin j'injectai hypodermiquement en un cochon d'Inde, pesant 457 grammes, un gramme et demi de sang de poule, qui avait été infecté deux heures auparavant par l'injection hypodermique de quelques gouttes de sang, tirées du doigt d'un cancéreux. Au bout de quelques jours l'animal devint triste et commença à dépérir. Le 17 il ne pesait plus que 359 grammes.

Il mourut le 19. Je fis l'autopsie, et je trouvai le cœur énorme ainsique le foie, et surtout les reins. Je conservai ces viscères dans l'alcool pour l'examen microscopique.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

Je la réalisai dans des conditions analogues à celles de l'expérience précédente, avec cette différence : que le sang ne fut pas tiré du doigt du malade, mais de l'ulcère cancéreux lui-même. Le cochon d'Inde dont je me servis pour cette opération pesait 412 grammes. Le 17 juin, cinq jours après le commencement de l'expérience, son poids n'était plus que de 335 grammes. Il mourut le 9 Juillet, au bout de 23 jours.

Résultat de l'autopsie : foie augmenté, cœur arrêté en systole et rigide, poumons congestionnés; celui du côté gauche était hépatisé dans le lobe moyen. Le rein droit était très augmenté de volume, durci, et de couleur pâle. Je le conservai dans de l'alcool. La rate était à l'état normal, et la vessie remplie d'urine incolore.

Virulence du propre sang cancéreux

L'expérience suivante montre que le sang cancéreux, tiré directement du malade et inoculé en petite quantité à des oiseaux, se comporte comme un agent toxique très actif.

Je vais décrire cette expérience.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

Le 1er Juillet j'injectai sous la peau d'un oiseau, pesant 14 grammes, le sang d'un malade, qui présentait une tumeur cancéreuse ulcérée, implantée sur la région parotidienne gauche (septième salle de chirurgie de l'hôpital de la *Misericordia)*. La quantité de sang injectée était d'environ $0^{cc},1$, et dissoute dans de l'eau de manière à former un volume de $0^{cc},7$. Le lendemain l'animal était mort. Le sang avait été tiré d'un doigt du malade, avec toutes précautions enseignées par la science.

Pour contrôler cette expérience j'injectai un autre oiseau du même poids avec $0^{cc},7$ d'eau distillée. Ce deuxième oiseau ne présenta rien d'anormal.

Atténuation du virus cancéreux

Une longue série d'expériences m'ont prouvé que l'organisme animal peut s'habituer au virus cancéreux, pourvu qu'on le soumette à des inoculations de plus en plus virulentes, à partir d'un degré de virulence convenablement affaibli. On comprendra facilement par l'exposition suivante la méthode que j'ai employée pour arriver à ce résultat.

J'ai tiré au moyen d'une simple piqûre, faite au doigt d'un malade cancéreux (cachexie cancéreuse), après l'avoir lavé à l'alcool et recouvert de collodium élastique, quelques gouttes de sang que j'ai recueillies dans une pipette stérilisée.

J'ai dissous dans de l'eau ce sang, dont la quantité n'arrivait pas à $0^{cc},3$, et j'en ai fait une injection hypodermique sous l'aile d'un poulet. J'ai laissé passer trois heures. Au bout de ce temps j'ai sacrifié l'animal en lui pratiquant au cou une large incision avec un bistouri stérilisé par la chaleur, et j'ai recueilli dans un matras-Pasteur égalemént stérilisé quelques grammes du sang artériel qui *coulait en arc*.

Ensuite j'ai ouvert l'abdomen et le thorax de l'animal, le plus rapidement et avec le plus de soin possible, et j'ai placé dans quatre vases préalablement stérilisés un morceau du oie, le cœur et le gésier, après avoir flambé la surface de tous ces organes à la flamme d'une lampe à alcool.

Je laissai passer deux jours, au bout des quels je vérifiai que tous les organes étaient en parfait état de conservation. Je pris alors un morceau de foie, que je triturai dans de l'eau distillée, et, après avoir laissé reposer le liquide, j'en injectai $0^{cc},3$ sous la peau d'un petit oiseau du poids de 12 grammes. Deux heures plus tard je trouvai cet oiseau presque moribond, et, fait curieux et important, attaqué de symptômes fort semblables à ceux que j'ai décrits plus haut comme caractéristiques de la ptomaïne cancéreuse.

J'autopsiai cet oiseau, et injectai avec $0^{cc},4$ de l'eau dans laquelle j'avaís trituré ses viscères (foie, poumons, cœur) un autre petit oiseau. J'eus soin de conserver une partie des viscères du premier, dans des vases stérilisés, comme je l'avait fait pour les viscères du poulet. Le lendemain le second oiseau était mort, ce qui prouvait la continuation de la virulence.

Je laissai passer encore deux jours. Je triturai les viscères dans de l'eau, et en fis à un autre oiseau une première injection de $0^{cc},3$, et à une heure d'intervalle une seconde injection de $0^{cc},4$.

Il se manifesta des symptômes d'intoxication (agitation, respiration oppressante, puis somnolence et coma). Une heure plus

tard je fis encore une injection de $0^{cc},9$. Le lendemain l'animal mourut.

En même temps que ce dernier oiseau, j'avais également injecté un pigeon pesant 290 grammes, en me servant du même liquide. Je lui inoculai d'abord hypodermiquement sous l'aile 7 grammes, et une heure après 3 grammes. Dès la première injection le pigeon présenta de l'agitation, il ne pouvait tenir en place et allait continuellement d'un coté à l'autre de sa cage. A la deuxième injection sa respiration devint plus difficile et il tomba en somnolence. Une heure plus tard je lui fis une nouvelle injection de 9 grammes. Au bout d'un quart d'heure état comateux et mort.

Je gardai les viscères de ce pigeon (foie et gésier) pendant deux jours dans des vases stérilisés, puis je triturai dans de l'eau un morceau du foie et en injectai un oiseau pesant 20 grammes. La première dose injectée fut $0^{cc},4$, et de demi-heure en demi-heure j'en injectai d'autres, également de $0^{cc},4$, jusqu'à atteindre le total de 2 grammes.

Tant que le total des doses injectées ne dépassa pas $1^{gr},4$ l'animal ne présenta rien d'anormal, à part une légère agitation. Mais lorsque cette quantité fut dépassée je vis commencer à se reproduire la somnolence, les tremblements convulsifs, la respiration oppressée, l'analgésie et la mort.

J'ôtai les viscères de l'animal (le foie, le cœur et les poumons) et les mis dans un vase stérilisé, où je les conservai encore pendant deux jours.

Après cet intervalle, je procédai comme précédemment : je triturai un morceau du foie dans de l'eau, et en injectai, à la quantité de 2 grammes en une seule fois, un oiseau du poids de 20 grammes. Il ne se manifesta qu'une légère perturbation après l'injection. Le lendemain l'animal était gai et bien à l'aise. Mais il succomba le quatrième jour.

Toutefois on voit qu'il n'avait presque pas ressenti les effets immédiats de l'injection.

Par suite des transplantations répétées dans des organismes d'animaux, le virus s'était évidemment atténué. En effet, nous avons vu que le virus le plus actif fut celui de la première expérience, puis qu'il tua un oiseau à la dose seulement de $0^{cc},3$ (dans l'espace de 2 heures).

Celui de la deuxième expérience produisit le même effet à la dose de $0^{cc},4$ (dans l'espace de 24 heures).

Celui de la troisième, à la dose de $0^{cc},9$ (dans l'espace de 24 heures).

Celui de la quatrième, à la dose de 1 gr. 5 à 2 gr. (dans l'espace de 5 heures).

Le liquide de la quatrième expérience ne parvint à tuer un pigeon pesant 290 gr. qu'à la quantité de 19 gr., en diverses doses fractionnées, et espacées.

Or, si ce liquide avait conservé sa virulence primitive, il aurait dû, dans ce cas, occasionner la mort à la dose seulement de $6^{cc},2$, puisque, dans la première expérience, la quantité de $0^{cc},3$ suffit pour faire succomber un oiseau, dont le poids était de 12 grammes. Donc, la virulence du liquide de la quatrième expérience était diminuée de plus de 20 fois ; il avait atteint la vingtième dynamisation.

Dans une cinquième expérience, nous avons vu qu'un animal du poids de 20 grammes a résisté à la dose de 2 grammes, injectée d'une seule fois, et n'a succombé que quatre jours après, probablement par une cause étrangère à l'injection. L'atténuation est donc évidente. Toute la méthode se réduit à recueillir du sang d'un individu reconnu cancéreux (et préferablement dans la période finale de cachexie), et à faire passer ce sang dans des organismes de poules ou de pigeons, où on le laisse en digestion pendant 3 ou 4 heures, au bout desquelles on sacrifie l'animal pour conserver les viscères (foie, cœur, poumons, gésier) dans

des vases stérilisés. On garde ces viscères pendant deux jours, puis on les triture dans de l'eau, et on en fait l'injection à de nouvelles poules où à de nouveaux pigeons, avec lesquels on procède de la même forme que précédemment ; et l'on continue 5 fois ou davantage ces transplantations et ces cultures de viscères jusqu'à ce que l'on obtienne une atténuation extrême du virus.

On reconnaît qu'on est arrivé à cette atténuation lorsque, faisant *pari passu* des inoculations à de petits oiseaux, en augmentant chaque fois la dose du liquide injecté, ceux-ci résistent à l'inoculation, à la dose de 2 grammes.

Immunité acquise par l'inoculation du virus cancéreux de plus en plus actif

Le sang de poule infecté par le sang d'un malade cancéreux que l'on a introduit par injection hypodermique dans son organisme, avec lequel il s'est trouvé en contact pendant trois heures, conserve pendant longtemps sa virulence quand on le tire au bout de cet intervalle, et qu'on le garde dans un matras-Pasteur ; de la même façon, les viscères gardés dans des vases stérilisés, suivant la méthode étudiée plus haut, conservent respectivement l'atténuation qu'ils ont une fois acquise.

Ainsi, douze jours après que j'eus sacrifié la première poule qui a servi à mes expériences, son sang conservait toute sa virulence, comme le preuve l'expérience suivante :

J'injectai avec $0^{cc},7$ de ce sang, dont la conservation était parfaite, un oiseau du poids de 10 grammes. L'animal mourut en quelques heures.

D'autres expériences analogues, faites avec du sang conservé pendant un intervalle de quatre à huit jours, me donnèrent les mêmes résultats.

Après avoir vérifié ce fait, je voulus m'assurer si l'inoculation

graduelle et progressive de cultures de plus en plus virulentes pourrait communiquer l'immunité à un animal.

Je fis à un oiseau du poids de 12 grammes une injection sous l'aile avec la quantité de $0^{cc},6$ de l'eau, dans laquelle j'avais trituré jusqu'à saturation un morceau de viscère (le foie) qui contenait le virus le plus bénin.

L'animal ne souffrit aucunement de l'inoculation.

Quatre jours plus tard, j'inoculai le même oiseau avec $0^{cc},6$ de la culture immédiate en virulence. Il supporta cette nouvelle injection sans donner aucune marque de souffrance.

Je laissai passer encore quatre jours, et répétai sur le même animal l'injection, cette fois avec $0^{ce},7$ d'une culture encore plus énergique que la précédente. Même résultat.

Enfin, après un intervalle de plus de six jours, j'injectai le même oiseau avec $0^{cc},5$ de sang virulent, le même que j'avais conservé dans le matras-Pasteur, et dont j'avais déjà vérifié l'énergie mortelle.

Pour contrôler la dernière expérience, et pour avoir une nouvelle preuve de cette énergie, je pris un autre oiseau du même poids que le précédent, et parfaitement sain; et je lui injectai une dose égale du même sang. Or, voici ce qui arriva. L'oiseau, qui avait été soumis aux inoculations de cultures d'action graduée, ne souffrit absolument rien, tandis que l'oiseau de contrôle mourut dans l'espace de quatre heures.

Quelques minutes après l'injection, il donna des signes d'abattement et de tristesse ; au bout d'environ dix minutes, il tomba dans un état de somnolence interrompue par des sursauts ; impossibilité de voler.

Horripilations par intervalles. Enfin, respiration difficile, paralysie et mort.

On voit donc qu'il est possible d'atténuer le virus cancéreux et de le graduer de manière à le rendre propre à communiquer l'immunité quand on l'inocule à des animaux.

Nous allons voir si, au moyen des mêmes cultures graduées, on peut obtenir dans l'organisme cancéreux une modification vitale, de manière à rendre possible l'utilisation des mêmes cultures comme agent thérapeutique.

Examen microscopique des lésions

Je procédai à l'examen microscopique de la tumeur abdominale, produite par l'inoculation d'une culture, que j'ai décrite au chapitre *Virulence des cultures* (première expérience).

Après avoir retiré la tumeur de l'alcool où elle était conservée, je fis avec la pointe d'un bistouri stérilisé une ponction qui provoqua la sortie d'une masse blanche, caséeuse, dont nous séparâmes une petite parcelle, qui, après avoir été colorée avec du carmin, fut examinée à un grossissement de 1000 diamètres. Nous vérifiâmes la présence d'un grand nombre de cellules qui ressemblaient à des cellules cancéreuses par leur aspect et leur forme spéciale.

Ainsi, ces cellules se trouvaient, les unes isolées, les autres réunies et formant des agglomérations.

Elles étaient de contours irréguliers, contenant dans leur intérieur des noyaux et des nucléoles, aplaties, tantôt de forme plus ou moins ovoïde, avec un grand noyau excentrique, et plusieurs nucléoles; tantôt ayant la configuration d'un sablier, à triangles allongés avec angles aigus ou arrondis, fusiformes, en raquette, etc.

Les contours de ces cellules étaient pâles et minces, surtout quand on les examinait sans les colorer par le carmin ; mais les noyaux offraient des contours bien accusés.

Les agglomérations présentaient la disposition alvéolaire, avec des cloisons entrecroisées.

Les cloisons de la tumeur étaient très amincies, et, en certains points, détruites totalement.

Nous ne rencontrâmes dans l'intérieur des cellules ni globules de graisse, ni matière caséeuse, ou autre dégénérescence. Mais, hors des cellules, nous aperçûmes un grand nombre de globules de graisse dispersés, qui disparaissaient sous l'action de l'éther.

Il est probable qu'il s'agissait d'un carcinôme encephaloïde, de consistance très molle, presque pultacée, ce qui n'a pas lieu d'étonner du reste chez un animal dont les tissus sont naturellement très tendres.

De cette tumeur, nous avons conservé une lamelle avec la préparation histologique. La tumeur elle—même est encore conservée presque tout entière, dans de l'alcool absolu.

Avec la même culture qui m'avait servi pour produire la tumeur précédente, j'injectai encore deux autres cochons d'Inde, dont l'un pesait 664 gr. et l'autre 502 gr. Trois jours après ces animaux avaient considérablement diminué de poids: le premier n'accusait plus à la balance que 624 gr.,et le second que 464 gr.

Sept jours plus tard je remarquai, aux points où j'avais fait l'injection hypodermique, une tumeur de la dimension d'un œuf de pigeon, sans réaction inflammatoire. Je pensai tout d'abord qu'il s'agissait d'un abcès. Mais, lorsque j'eus opéré la ponction sur l'un deux,il s'échappa un liquide laiteux, crémeux, qui examiné au microscope, me révéla la présence d'un grand nombre d'alvéoles contenant des cellules de l'aspect déjà décrit. On remarquait aussi des globules de pus.

Il faut ajouter que, dans l'intervalle des cellules, je rencontrai un grand nombre de spores, et quelques bacilles, avec les caractères que j'ai décrits ailleurs. Les animaux qui sont morts par suite des inoculations présentaient dans les reins, le foie et autres viscères des foyers durcis, où l'on rencontrait des cellules suspectes ressemblant à celles du carcinôme.

CONCLUSIONS

On peut tirer de ces premières études sur la nature du cancer les conclusions suivantes :

1.° Dans l'organisme des malades cancéreux que nous examinâmes on rencontre un micro-organisme,qui se présente dans le sang sous la forme de micrococcus réunis en *zooglée* et qui, dans les cultures, se développe en bacilles, dont la prolifération se fait par sporulation :

2° Le cancer paraît être transmissible par le moyen de cultures. Il se produit, du moins, dans les animaux sur lesquels on pratique des inoculations avec ces cultures, un état de cachexie qui se termine par la mort, et l'on trouve presque toujours dans le cardia, le pylore et d'autres points, des lésions de nature cancéreuse (carcinose miliaire aigüe ?) ;

3.° Le virus cancéreux renferme une substance très toxique (ptomaïne), qui peut s'isoler de l'urine, par laquelle se fait en grande partie son élimination ;

4.° L'énergie du virus cancéreux peut se graduer, au moyen de transplantations successives dans des poules et des pigeons, dans l'organisme desquels on le laisse séjourner quelques heures (les animaux jouent alors le rôle de véritables étuves vivantes) ;

5.° Si l'on inocule à des oiseaux du virus de plus en plus actif, ils acquièrent une immunité parfaite contre l'intoxication cancéreuse, et résistent à l'inoculation d'un virus mortel.

6.° Ces faits nous donnent l'espoir que nous pourrons trouver une thérapeutique efficace pour la cure de l'affection cancéreuse, en employant des cultures graduées, moyen qui se devra appliquer dès que le diagnostic de l'affection aura été confirmé, et suivre le plus près possible l'invasion du mal.

Ce dernier point occupera prochainement notre attention.

INDEX

Avant propos.. 3
Le microbe du cancer.................................. 5
Examen microscopique du sang et sa culture............ 7
Analyse chimique de l'urine........................... 11
Expériences d'inoculation du principe alcalin à l'état de sulfate acide.................................... 12
Expériences sur des oiseaux — Action physiologique de la ptomaine cancéreuse sur ces animaux.................. 14
Virulence des cultures................................ 17
Virulence du propre sang cancéreux.................... 20
Atténuation du virus cancéreux........................ »
Immunité acquise par l'inoculation du virus cancéreux de plus en plus actif.................................. 24
Examen microscopique des lésions...................... 26
Conclusions... 28